AMEA-nın Xəbərləri (biologiya və tibb elmləri), cild 68, №1, səh. 95-99 (2013)

Antioksidant Sistemi Fermentlərinin Və Lipid Peroksidləşməsinin Xroniki Böyrək Çatışmazlığının Proqressivləşməsində Rolu

R.R. Göyüşova[1], M.R. Quliyev[2]

[1]*Bakı Dövlət Universiteti, akad. Z.Xəlilov kuç.,* 23, Azərbaycan
[2]*Azərbaycan Tibb Universiteti, Bakıxanov kuç.,* 23, Azərbaycan

Tədqiqat işində xroniki böyrək çatışmazlığı (XBÇ) olan xəstələrdə patoloji prosesin mərhələsindən asılı olaraq antioksidant sistemin (AOS) aktivliyinin və lipid peroksidləşməsi (LPO) proseslərinin intensivliyi öyrənilmişdir. Müəyyən edilmişdir ki, hemodializ LPO məhsullarının səviyyəsinə təsir göstərmir. AOS göstəriciləri olan superoksiddismutaza (SOD) və katalazanın (KAT) hemodializdə olan xəstələrdə artması orqanizmin müdafiə qabiliyyətinin artması kimi qiymətləndirilmişdir. Qlutationperoksidazanın (QP) aktivliyinin azalmasına XBÇ zamani baş verən metabolik asidoz səbəb ola bilər. Reduksiya olunmuş GSH səviyyəsinin azalması LPO proseslərinin intensivləşməsi və QP aktivliyinin azalması ilə əlaqədardır.

Açar sözlər: *xronik böyrək çatışmazlığı, lipid peroksidləşməsi, antioksidant sistem, superoksiddismutaza, katalaza, qlutationperoksidaza, qlutation*

GİRİŞ

Xroniki böyrək çatışmazlığı (XBÇ) – böyrəklərin birincili və ya ikincili zədələnməsi nəticəsində nefronların tədricən məhv olması və homeostaz pozulmaları ilə müşayiət olunan simptomokompleksdir. XBÇ-nin rastgəlmə tezliyi hər 1 mln əhaliyə 100-600 arasında dəyişir və yaş artdıqca baş vermə ehtimalı yüksəlir. Son vaxtlarda hipertoniya, 2-ci tip şəkərli diabet və generalizə olunmuş ateroskleroz fonunda təkcə yaşlılarda deyil, həm də 60 yaşdan aşağı insanlarda XBÇ-nin rastgəlmə tezliyi artmaqdadır (Carluccio et al., 2002).

XBÇ qalıq azot komponentlərinin ekskresiyasının nəzərə çarpacaq dərəcədə azalması və böyrəklərin funksiyalarının zəifləməsi ilə yanaşı, həm də dərin metabolik və endokrin dəyişikliklərlə xarakterizə olunur. Böyrək çatışmazlığının proqressivləşməsinin patogenetik mexanizmləri araşdırılarkən müəyyənləşdirilmişdir ki, arterial hipertenziya, diabetik nefropatiya, proteinuriya və dislipidemiya əsas amillərdəndir (Canesrtani et al., 1995).

XBÇ-nin inkişafı və formalaşmasında metabolik və hemodinamik pozulmalar ilə yanaşı orqanizmin prooksidant sistemində müşahidə edilən dəyişikliklərin də mühüm rol oynadığı güman edilir (Haklar et al.,1995; Jackson et al., 1995).

XBÇ olan xəstələrdə LPO prosseslərinin sürətlənməsi barədə məlumatlar bir sıra elmi tədqiqat işlərinin nəticələrində göstərilmişdir (Mimic-Oka et al., 1999; Nenov et al., 1995). Lakin aparılan çoxsaylı araşdırmalara baxmayaraq XBÇ zamanı oksidativ stress mexanizmləri sonadək öyrənilməmişdir. Son illər müəyyən olunmuşdur ki, XBÇ və ürək-damar patologiyası olan xəstələrdə oksidativ stressin aterogenez prosesini stimulyasiya etməsi patoloji prosesin proqressivləşməsinə gətirib çıxaran hemodinamik və qeyri-hemodinamik pozulmaların əsas səbəblərindən biridir (Дзугкоева и др., 2011; Осиков, Григорьев, 2011). XBÇ olan xəstələrin qan plazmasında karbohidratların, lipidlərin və zülalların oksidləşmə məhsullarının artması da oksidləşdirici stressin sürətlənməsini şərtləndirən amillərdir (Бикбов, Томилина 2009). Hüceyrə və toxumalarda müşahidə edilən metabolizm pozulmaları son nəticədə membran-destruktiv proseslərə gətirib çıxararaq, XBÇ-nin proqressivləşməsini şərtləndirə bilər (Гудим и др., 1980; Fridovich et al., 1961).

Hazırki işin məqsədi XBÇ olan xəstələrdə patoloji prosesin mərhələsindən asılı olaraq antioksidant sistemin aktivliyinin və lipid peroksidləşməsi proseslərinin intensivliyinin öyrənilməsi olmuşdur.

MATERİAL VƏ METODLAR

Tədqiqata 27-65 yaşı olan (orta yaş göstəricisi 39,5±1,36) 59 nəfər cəlb olunmuşdur. Xəstələr iki qrupa bölünmüşlər: 1-ci qrupa konservativ müalicə alan 16 xəstə, 2-ci qrupa XBÇ-nin terminal mərhələsində olan və hemodializ müalicəsi alan 28 xəstə daxil edilmişdir. Nəzarət qrupu 15 praktik sağlam şəxsdən (7 qadın və 8 kişi) ibarət olmuşdur.

Bütün xəstələrdə qanın və sidiyin ümumi analizi aparılmış, qan zərdabında sidik cövhərinin və kreatininin qatılığı “Human” (Almaniya) firmasinin reaktiv dəstinin vasitəsi ilə müəyyənləşdirilmişdir.

Antioksidant mühafizə sisteminin vəziyyətini qiymətləndirmək üçün qanda katalazanın (KAT), qlütationperoksidazanın (QP), superoksiddismutazanın (SOD) aktivliyi və reduksiya olunmuş qlütationun (GSH) səviyyəsi təyin edilmişdir. KAT fermentinin aktivliyi M.A.Королюк və b. təklif etdikləri spektrofotometrik üsulla ölçülmüşdür (Королюк и др., 1988). Bu metodun prinsipi hidrogen peroksidin molibden duzları ilə davamlı sarı rəngli kompleks əmələ gətirməsinə əsaslanır. SOD aktivliyi Дубинина Е.Е. və b. təklif etdiyi üsulla, NADH və fenazinmetosulfatın (FMS) iştirakı ilə nitrotetrazolin göyününün reduksiyasının inhibisiyasına əsasən müəyyənləşdirilmişdir (Дубинина и др., 1983).

QP aktivliyi üçlü butil hidroperoksidinin iştirakı ilə qlütationun oksidləşmə sürətinin təyini prinsipi ilə ölçülmüşdür (Моин, 1986). GSH konsentrasiyası Ellman metodu ilə təyin edilmişdir. Bu üsulun prinsipi 5,5' -ditio-bis-nitrobenzoy turşusunun SH qrupları ilə qarşılıqlı əlaqəsi zamanı sarı rəngli məhsulların alınmasına əsaslanır (Ellman, 1959).

Antioksidant sistemin vəziyyəti LPO-nin ilkin məhsulu olan dien konyuqatlarının (DK) və aralıq məhsulu malon dialdehidinin (MDA) qatılığının təyini əsasında qiymətləndirilmişdir. MDA qatılığı onun yüksək temperaturda tiobarbitur turşusu ilə reaksiyası nəticəsində 532 nm dalğa uzunluğunda maksimun udulan rəngli kompleksin əmələ gəlməsinə əsaslanaraq təyin edilmişdir (Osakava, Matshushita, 1980). DK qatılığı Гаврилова В.Б. və b. təklif etdikləri metodla LPO zamanı konyuqasiyaya uğramış dien strukturlarının 232-234 nm dalğa uzunluğunda udulma intensizliyinin dəyişməsinə əsasən müəyyən edilmişdir (Гаврилова и др., 1988).

Tədqiqatın statistik işlənməsi zamanı parametrik göstəricilər Styudentin t-meyarı, qeyri-parametrik göstəricilər isə Uilkokkson-Mann-Uitni metodu ilə müqayisə olunmuşdur. Nəticələr orta göstərici (±), standart orta xəta (M±m) şəklində ifadə edilmişdir. Kəskin fərqlənən rəqəmlər Fischer testi vasitəsilə seçilib kənarlaşdırılmışlar və $p< 0,05$ olduqda nəticələr dürüst qəbul olunmuşdur (Mehta, Patel, 1997)

NƏTİCƏLƏR VƏ ONLARIN MÜZAKİRƏSİ

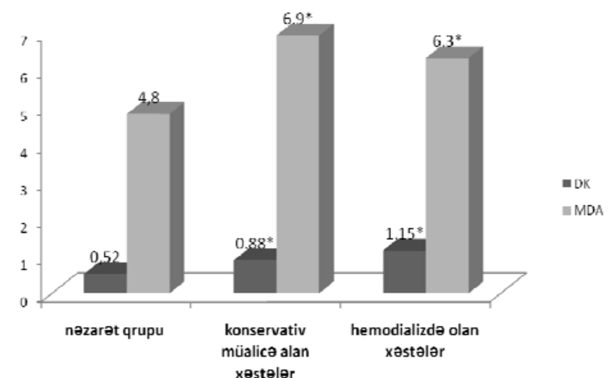
Laborator diaqnostikada böyrəklərin zədələnməsinin əsas markeri zülal mübadiləsinin son məhsullarının səviyyəsinin təyini hesab olunur. Tədqiqatın nəzarət qrupuna daxil olan şəxslərin qanında kreatininin və sidik cövhərinin qatılığı normal səviyyədə olmuşdur. 1-ci cədvəldən göründüyü kimi XBÇ olan xəstələrin daxil olduğu hər iki qrupda kreatininin və sidik cövhərinin səviyyəsi nəzarət qrupuna nisbətən əhəmiyyətli dərəcədə yüksəlir. Belə ki, konservativ müalicə alan xəstələrdə kreatinin səviyyəsinin 7 dəfə, sidik cövhərinin isə 5,5 dəfə, hemodializdə olanlarda isə hər iki göstəricinin 4 dəfə artması müşahidə olunur. Lakin konservativ müalicə alan xəstələrdə XBÇ-nin terminal mərhələsində dializ alanlara nisbətən hiperazotemiyanın daha yüksək səviyyəsi qeyd olunur, bu isə müntəzəm hemodalizin kreatinin və sidik cövhəri səviyyəsinin azalmasında müəyyən rolu olduğunu təsdiqləyir.

Cədvəl 1. Xroniki böyrək çatışmazlığı olan xəstələrin qanında zülal mübadiləsinin son məhsullarının səviyyəsi (M± m)

Göstəricilər	Tədqiqat qrupları		
	Nəzarət qrupu n=15	Konservativ müalicə alan xəstələr n=16	Hemodializdə olan xəstələr n=28
Kreatinin mkmol/l	88,4±2,9	638,9±83,5*	439,8±58,3*
Sidik cövhəri, mmol/l	5,2±0,25	28,9±1,65	24,5±1.4*

*p<0,05

Şəkildə XBÇ olan xəstələrdə LPO göstəriciləri olan DK və MDA səviyyələrinin müalicə taktikasından asılı olaraq dəyişməsi əks olunmuşdur. Göründüyü kimi həm konservativ müalicə alan, həm də hemodializdə olan xəstələrdə DK və MDA səviyyəsi nəzarət qrupuna nisbətən yüksək olmuşdur. Nəzarət grupu ilə müqaisədə konservativ müalicə alan xəstələrdə DK və MDA səviyyəsi 1,6 dəfə, hemodializ alan xəstələrdə isə DK səviyyəsi 2,2 dəfə, MDA isə 1,7dəfə yüksək olmuşdur.



Şəkil. Xroniki böyrək çatışmazlığı olan xəstələrin qan plazmasında lipid peroksidləşməsinin göstəriciləri. *p<0,05 nəzarət qrupu ilə müqayisədə fərqin statistik dürüstlüyü

Bu isə patoloji prosesin ağırlıq dərəcəsindən asılı olmayaraq XBÇ zamanı LPO sürətlənməsini

göstərir. Qeyd etmək lazımdır ki, hemodializ prosedurası LPO məhsullarının səviyyəsinə nəzərə çarpacaq dərəcədə təsir göstərmir.

Tədqiqat qrupları üzrə antioksidant sistem göstəriciləri 2 saylı cədvəldə əks olunmuşdur. Cədvəldən göründüyü kimi XBÇ SOD və KAT aktivliyinin əhəmiyyətli dərəcədə artması, QP aktivliyinin və GSH qatılığının isə azalması ilə müşayiət olunur. XBÇ zamanı yüksək SOD aktivliyini superoksid anion-radikalin artıq sintezinə səbəb olan hipoksik və iltihabi prosesə qarşı kompensator-adaptasiya reaksiyası kimi qiymətləndirilə bilər. Hidrogen peroksid (H_2O_2) KAT substratı və SOD-un allosterik inhibitorudur. KAT aktivliyi hüceyrədə H_2O_2 toplanmasını və müvafiq olaraq SOD inhibisiyasını azaldır. Ədəbiyyat məlumatına görə LPO-nin zərərli məhsullarının təsirindən eritrositıərin membran strukturlarının pozulmasına qarşı cavab reaksiyası olaraq SOD aktivləşir və membranı daha dərin zədələnmələrdən qoruyur. Ola bilər ki, SOD aktivliyinin artması superoksid radikalların eliminasiyasını təmin edən digər amillərin çatışmazlığını, məsələn, qaraciyər xəstələrində seruloplazmin və qlütation səviyyəsinin azalmasını kompensasiya edir (Блинова, 2000). Ümumiyyətlə, aparılan tədqiqat işlərinin nəticələrinə əsasən SOD aktivlik səviyyəsinin artmasını oksidativ stress şəraitində eritrosit membranı tamlığının qorunması və reaktiv oksigen radikallarının azalmasına doğru yönəlmiş adaptiv reaksiya kimi qiymətləndirmək olar.

Cədvəl 2. Xroniki böyrək çatışmazlığı olan xəstələrdə terapiyanın növündən asılı olaraq qanın antioksidant sisteminin əsas göstəriciləri

Göstəricilər	Tədqiqat qrupları		
	Nəzarət qrupu n=15	Konservativ müalicə alan xəstələr n=16	Hemodializdə olan xəstələr n=28
SOD BV/mqHb	1,1±0.06	1,38±0,12*	1,46±0,12*
KAT V/mqHb	11,8±1,8	17,6±3,5*	28,9±5,2*
QP mkM/dəq/rHb	276,2±18,4	165,8±18,3*	182,4±12,6*
GSH mkmol/ml	0,54±0,025	0,39±0,025*	0,46±0,01*

*p<0.05

Apardığımız tədqiqat nəticəsində XBÇ-nin terminal mərhələsində KAT aktivliyinin əhəmiyyətli dərəcədə yüksək olması müəyyənləşmişdir. Bir sıra müəlliflər bunun əksinə olaraq göstərirlər ki, XBÇ zamanı oksidativ stress hemodializ prosedurasının aparılmasından asılı deyil və təkcə sərbəst radikalların yaranmasının sürətlənməsi ilə deyil, həm də antioksidant sistem aktivliyinin nəzərə çarpacaq dərəcədə azalması ilə əlaqədardır (Morena, 2005). Ədəbiyyat məlumatlarında göstərilir ki, XBÇ olan xəstələrdə hemodializdən asılı olmayaraq qan plazmasında KAT, Cu və Zn-dən asılı SOD-un aktivliyi azalır (Григорьев, Осиков, 2011). Müxtəlif müəlliflərin hemodializin sərbəst radikalların yaranması və oksidləşmə proseslərinə təsiri barədə bir-birinə zidd olan bu nəticələri hemodializ prosedurasının aparılma şəraiti, səviyyəsi və bir sıra müxtəlif amillərlə əlaqədar ola bilər (Блинова, 2000).

GSH hidrogen-peroksidin zərərsizləşdirilməsi prosesində QP substratı olduğu üçün, onun çatışmazlığı QP aktivliyinin azalması ilə müşayiət olunur. XBÇ olan xəstələr üçün xarakterik olan metabolik asidoz da QP aktivliyinin azalmasına gətirib çıxara bilər. Böyrək patologiyaları zamanı GSH səviyyəsinin dəyişməsinə dair olan ədəbiyyat məlumatları bir-birinə ziddir. Belə ki, XBÇ zamanı J.M. Sawant və b. GSH səviyyəsində heç bir dəyişiklik aşkar etmədikləri halda (Sawant et al., 2010) digər tədqiqatda qeyd olunur ki, hemodializdən sonra xəstələrdə GSH qatılığı əhəmiyyətli dərəcədə artır (Lucchi et al., 2005). Mohamed-Siael S. Alhamdani və b. isə öz tədqiqatlarında XBÇ olan xəstələrdə GSH səviyyəsinin azalmasını müəyyən etmişlər (Mohamed-Siael, Alhamdani, 2005; Lim et al., 1999). Bu nəticələrə əsasən qeyd etmək olar ki, XBÇ zamanı GSH səviyyəsinin dəyişməsi xəstələrin anioksidant statusunun indikatoru kimi özünü doğrultmur (Sawant et al., 2010).

Yekun olaraq qeyd etmək olar ki, XBÇ zamanı LPO sistemində göstəricilər mualicədən asılı olaraq dəyişmir, antioksidant sistem göstəriciləri isə hemodializ aparılan xəstələrdə əhəmiyyətli dərəcədə yüksəlir ki, bunu da kompensator olaraq, orqanizmin müdafiə qabiliyyətinin mobilizasiyasi kimi qiymətləndirmək olar. Oksidativ stress XBÇ zamanı proqressivləşmənin ümumi patoloji mexanizmlərinin əsasında dayanır.

XBÇ zamani orqanizmdə baş verən dəyişikliklərin ətraflı oyrənilməsi mualicə və profilaktika üsullarinin təkmilləşdirilməsinə əsas verə bilər. Lakin oksidativ stressin patogenezinə dair bir çox məsələlər sonadək aydınlaşmayıb və bu sahədə geniş aspektli tədqiqatlaın aparılmasına ehtiyac var.

ƏDƏBİYYAT

Бикбов Б.Т., Томилина Н.А. (2009) Состояние заместительной почечной терапии больных с хронической почечной недостаточностью в Российской Федерации в 1998-2007 гг. (Аналитический отчет по данным Российского регистра заместительной почечной терапии). *Ж.Нефрология и диализ,* **11:**144-233

Блинова Т.В. (2000) Влияние гемодиализа на антиокислительную систему эритроцитов у людей с почечной недостаточностью. *Афтореф. дисс. ... канд. биол. наук.* Краснодар, 23 с.

Гаврилова В.Б., Гаврилова А.Р., Хмара Н.Ф. (1988) Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по УФ – поглощению гептановых и изопропанольных экстрактов. *Лаб. дело,* **№2:**60-64.

Григорьев Т.А., Осиков М.В. (2011) Процессы свободно-радикального окисления и роль эритропоэтина в их коррекции у больных хронической почечной недостаточностью, находящихся на гемодиализе. *Современные проблемы науки и образования,* **№2:**24-28.

Гудим В.И., Сигалла П., Иванова В.С. (1980) Изучение эффекта уремической сыворотки ее фракций на стволовую клетку. *Бюлл. эксперем. биологии и медицины,* **86(5):** 592-594.

Дзугкоева Ф.С., Такоева Е.А., Можаева И.В. с соавт. (2011) Состояние активности про- и антиоксидантной системы как факторов риска эндотелиальной дисфункции почечной недостаточности у больных с хроническими болезнями почек. *Ж. Успехи современного естествознания,* **12:**38-39

Дубинина Е.Е., Сальникова Л.А., Ефимова Л.Ф. (1983) Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека. *Лаб. дело,* **10:**30-33.

Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. (1988) Методы определения активности каталазы. *Лаб. дело,* **1:**16-19.

Моин В.М. (1986) Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах. *Лаб. дело,* **12:**724-727.

Осиков М.В., Григорьев М.В. (2011) Влияние эритропоэтина на тромбоцитарно-лейкоцитарные взаимодействия и экспрессию тромбоцитарных гликопротеинов у больных с терминальной почечной недостаточностью. *Вестник Уральской медицинской академической науки,* **2/1**:56-57.

Canesrtani F., Buoncristiani U., GalliF. (1995) Redox state, antioxidative activity and lipid peroxidation in erythrocytes and plasma of chronic ambulatory peritoneal dialysis patients. *Clin. Chim. Acta,* **234:**127-136.

Carluccio F., Siems W., Stefanelli G. et al. (2002) Homocysteine in chronic renal failure in relation to renal anemia and to oxidative stress parameters 4-hydroxynonenal and malondialdehyde. *Clin. Nephrol*., **58(Suppl. 1):**S26-S30.

Ellman A.L. (1959) Tissue sulphhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophis.,* **82(1):**48-51.

Fridovich I., Handler P. (1961) Detection of free radical generated during enzymic oxidation by initiation sulfure oxidation. *Ibid.*, **236:**1836-1840

Haklar G, Yegenaga L, YalcinAS. (1995) Evaluation of oxidant stress in chronic hemodialysis patients: use of different parameters. *Clin. Chim. Acta,* **234:**109-114.

Jackson P., Loughrey C.M., Lightbody J.H. et al. (1995) Effect of hemodialysis on total antioxidant capacity and serum antioxidants in patients with chronic renal failure. *Clin. Chem.,* **41:**1135-1138.

Lim P.S., Wei Y.H., Yu Y.L., Kho B. (1999) Enhanced oxidative stress in hemodialysis patients receiving intravenous iron therapy. *Nephrol. Dial. Transplant.,* **14:**2680-2687.

Lucchi L., Bergamini S., Iannone A., Perrone S., Stipo L., Olmeda F., Caruso F., Tomasi A., Albertazzi A. (2005) Erythrocyte susceptibility to oxidative stress in chronic renal failure patients under different substitutive treatments. *Artif. Organs,* **29(1):**67-72.

Mehta C.R., Patel N. R. (1997) Exact inference in categorical data. *Biometrics,* **53(1):**112-117.

Mimic-Oka J., Simic T., Djukanovic L. et al. (1999) Alteration in plasma antioxidant capacity in various degrees of chronic renal failure. *Clin. Nephrol.,* **51:**233-241.

Mohamed-Siael S. Alhamdani. (2005) Impairment of glutathione biosynthetic pathway in uraemic and dialysis. *Nephrol. Dial. Transplant.,* **20(1):**124-128.

Morena M. Delbosc S., Dupuy A.M.et al. (2005) Overproduction of reactive oxygen species in end-stage renal disease patients: a potential component of hemodialysis-associated inflammation. *Hemodial. Int.,* **9(1):**37-46.

Nenov D., Paskalev D., Yankova T., Tchankova T. (1995) Lipid peroxi-dation and vitamin E in red blood cells and plasma in hemodialysis patients under rhEPO treatment. *Artif. Organs.,* **19:**436-439.

Osakava T., Matshushita S. (1980) Coloring conditions of thiobarbituric acid test foe detection lipid peroxides. *Lipids,* **15(3):**137-140.

Sawant J.M., Nair S., Redkar N.N. (2010) Oxidative stress and serum paraoxonase activity in patients on maintenance hemodialysis. *The Internet Journal of Nephrology,* **6(1):** DOI 10.5580/8cf.

Роль Ферментов Антиоксидантной Системы И Перекисного Окисления Липидов При Прогрессировании Хронической Почечной Недостаточности

Р.Р. Гоюшова[1], М.Р. Кулиев[2]

[1] *Бакинский государственный университет*
[2] *Азербайджанский медицинский университет*

В данной работе были изучены активность антиоксидантной системы (АОС) и интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в зависимости от стадии патологического процесса у больных с хронической почечной недостаточностью (ХПН). Выяснено, что гемодиализ не влияет на уровень продуктов ПОЛ. Повышение показателей АОС супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы (КАТ) у больных, находящихся на гемодиализе, можно оценивать как временное повышение защитных возможностей организма. Метаболический ацидоз, характерный для ХПН, может быть причиной снижения активности ГП. Снижение уровня восстановленного глутатиона (GSH) связано с интенсивностью процессов ПОЛ и уменьшением активности ГП.

The Role Of Enzims Of Antioxidant System And Lipid Peroxidation In The Progression Of Chronic Renal Failure

R.R. Goyushova[1], M.R. Quliyev[2]

[1] *Baku State University*
[2] *Azerbaijan Medical University*

This study investigated the changes in antioxidant system (AOS) and lipid peroxidation (LP) activity depending on the stage of pathologic processes in patients with chronic renal insufficiency (CRI). It was determined that hemodialysis does not effect on the levels of LPO products. We estimated the elevation of AOS parameters - superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) in patients with hemodialysis as the might be accepted as improved compensatory abilities of the organism. Low activity of glutathione peroxidase (GP) might be in the result of metabolic acidosis in patients with CRI. Decreased concentration of reduced GSH might be connected with activation of LP and inhibition of GP activity.